

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## BEST AVAILABLE IMAGES

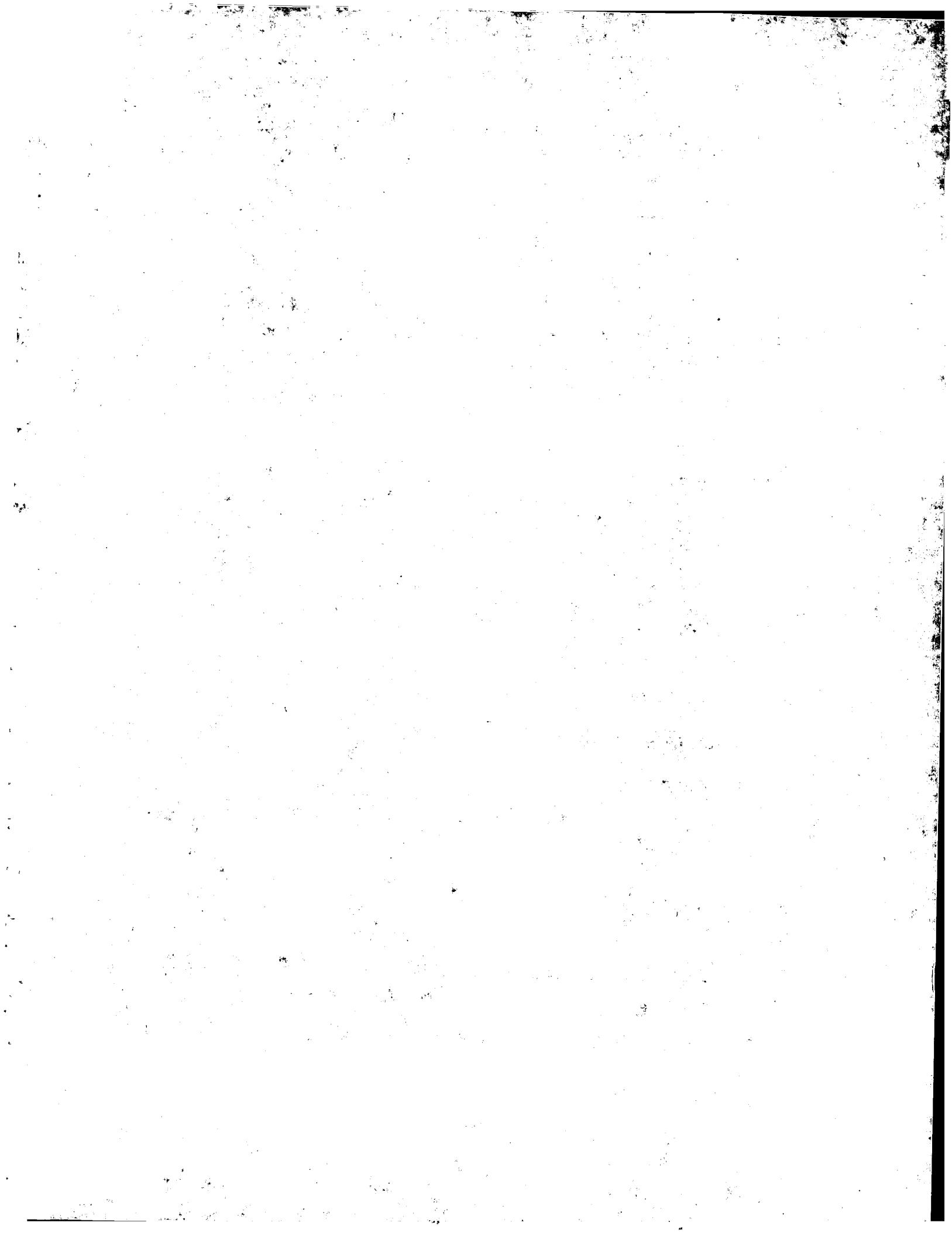
Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**



(19) BUNDESREPUBLIK

DEUTSCHLAND



DEUTSCHES

PATENTAMT

(12) Offenlegungsschrift  
(10) DE 42 30 194 A 1

(51) Int. Cl. 5:

C 12 M 3/00

C 12 M 1/12

C 12 M 3/06

C 12 N 1/00

C 12 N 1/20

C 12 N 5/00

C 12 P 21/00

C 12 P 21/08

C 07 K 15/28

A 61 F 2/00

// B01D 69/08, 71/26,

71/56, 71/68, 71/10

DE 42 30 194 A 1

(21) Aktenzeichen: P 42 30 194.7  
(22) Anmeldetag: 9. 9. 92  
(43) Offenlegungstag: 10. 3. 94

(71) Anmelder:

Gerlach, Jörg, Dr.med., 1000 Berlin, DE

(72) Erfinder:

gleich Anmelder

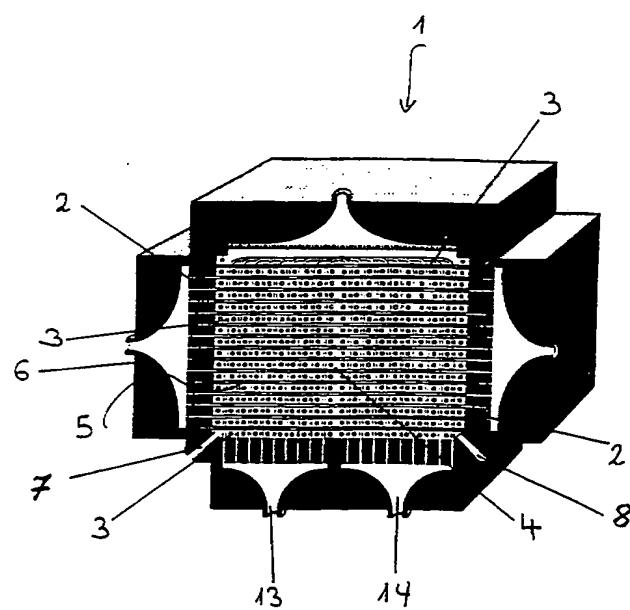
(74) Vertreter:

Pfenning, J., Dipl.-Ing., 10707 Berlin; Meinig, K.,  
Dipl.-Phys., 80336 München; Butenschön, A.,  
Dipl.-Ing. Dr.-Ing., Pat.-Anwälte; Bergmann, J.,  
Dipl.-Ing., Pat.- u. Rechtsanw., 10707 Berlin; Nöth, H.,  
Dipl.-Phys., 80336 München; Hengelhaupt, J.,  
Dipl.-Ing., 01097 Dresden; Kraus, H., Dipl.-Phys.,  
Pat.-Anwälte, 80336 München

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

(54) Modul zur Züchtung und zur Nutzung der Stoffwechselleistung zum Erhalt von Mikroorganismen

(57) Die Erfindung betrifft ein Modul (1) zur Züchtung und zur Nutzung der Stoffwechselleistung zum Erhalt von Mikroorganismen (9), insbesondere für Zellen oder Bakterien, bestehend aus einem Außengehäuse (2), mindestens drei unabhängigen Membransystemen, wobei mindestens zwei unabhängige Membransysteme als Hohlfasermembrane (3) ausgebildet und im Innenbereich (4) des Moduls (1) angeordnet sind, und daß diese Hohlfasermembrane (3) ein dicht gepacktes räumliches Netzwerk (5) bilden und Mikroorganismen (9), die sich in den Hohlräumen des Netzwerkes (5) befinden und/oder an den Hohlfasermembranen (3) adhären.



DE 42 30 194 A 1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingerichteten Unterräumen entnommen

BUNDESDRUCKEREI 01.94 308 070/503

18/53

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Modul zur Züchtung und zur Nutzung der Stoffwechselleistung zum Erhalt von Mikroorganismen, insbesonders von Zellen oder Bakterien sowie ein Verfahren zum Betreiben des Moduls und die Verwendung des Moduls.

Vorrichtungen für den Stoffaustausch, z. B. Bioreaktoren, Perfusionsgeräte oder allgemein Module, insbesondere im Bereich von Leberunterstützungssystemen, sind bekannt.

In der DE-OS 38 37 226 wird ein Perfusionsgerät zum Züchten und Erhalt von Hepatozyten beschrieben. Dieses Perfusionsgerät ist dadurch gekennzeichnet, daß es eine Kammer mit Zellkompartiment und Perfusionskompartiment, welche durch eine semipermeable Membran getrennt sind, enthält. Die Hepatozyten sind dabei an den Träger im Hepatozyten-Kompartiment immobilisiert.

Zusätzliche Hohlfasermembrane im Zellkompartiment enthalten Galle.

Aus der US 3,734,351 ist eine Methode zur leberspezifischen Behandlung von Blut und eine entsprechende Vorrichtung beschrieben. Diese Vorrichtung weist einen Kammer mit drei unabhängigen, übereinander geschichteten Kompartimenten, welche durch zwei Flachmembraneinlagen in der Kammer gebildet werden, auf.

Das erste Kompartiment enthält Blut, dessen Bestandteile durch die erste Membranlage hindurch in das zweite Kompartiment gelangen können. Im zweiten Kompartiment befinden sich Leberzellen, welche die Blutbestandteile verschiffen. Eine zweite Membran teilt dieses Zellkompartiment von einem dritten Kompartiment, in welchem sich eine Dialysatflüssigkeit befindet. In dieses dritte Kompartiment diffundieren Stoffe aus dem Zellkompartiment, welche hieraus abtransportiert werden können.

Der Stoffaustausch zwischen den Zellen und dem Blut oder Mediumkompartiment entsteht bei diesem Stand der Technik durch Diffusion. Dies wirkt sich aber nachteilig auf den Zellstoffwechsel und dessen Steuerbarkeit aus. Bedingt durch die bauliche Ausgestaltung, nämlich Bauformen, die dadurch gekennzeichnet sind, daß das Medium auf einer Seite einströmt und nach der Diffusion durch die Membran wieder austritt, ergibt sich zwischen dem Mediumeinfluß und dem Mediumausfluß ein unterschiedlicher Beitrag für den Zellstoffaustausch. Im Anfangsbereich findet ein erhöhter Stoffaustausch statt, der dann im Laufe des Hindurchfließens des Mediums durch die Hohlfasermembrane abnimmt. Dies hat zur Folge, daß die Zellen einen unterschiedlichen Beitrag bezüglich des Stoffaustausches ausgesetzt sind. All dies führt dazu, daß kein gleichmäßiger Stoffaustausch stattfindet und z. B. der Metabolismus von Zellen und deren Lebensfähigkeit deutlich beeinträchtigt wird.

Hier setzt die vorliegende Erfindung ein, deren Aufgabe es ist, ein Modul für den Stoffaustausch zwischen Mikroorganismen, insbesondere Zellen, und einem Medium anzugeben, das es ermöglicht, daß der Stoffaustausch und die Steuerbarkeit des Stoffaustausches verbessert werden und daß z. B. der Metabolismus und die Lebensfähigkeit von Zellen gesteigert werden.

Die Aufgabe wird durch den Anspruch 1 gelöst. Die Unteransprüche 2 bis 15 betreffen vorteilhafte Weiterbildungen des Moduls.

Das Verfahren zum Betreiben des Moduls ist durch den Anspruch 16 gekennzeichnet. Die Ansprüche 17 bis 27 betreffen Weiterbildungen des Verfahrens.

Die Verwendung des Moduls ist durch die Ansprüche 28 bis 31 gekennzeichnet.

Erfahrungsgemäß wird dabei unter Modul eine Stoffaustauschvorrichtung in Form dreidimensionaler Körper verstanden, der aus einem Außengehäuse und einem inneren Bereich besteht, wobei im Inneren des Moduls ein dicht gepacktes räumliches Netzwerk angeordnet ist. Die Form des Moduls kann dabei vielgestaltig sein. Das Modul kann z. B. einen rechteckigen, quadratischen oder auch n-eckigen Grundriß aufweisen. Auch kugelförmige Module sind für die erfahrungsgemäße Lehre geeignet.

Erfindungswesentlich ist nun, daß mindestens drei unabhängige Membransysteme eingesetzt werden, wobei hier mindestens zwei unabhängige Membransystem als Hohlfasermembransysteme ausgebildet sind und daß diese Hohlfasermembransysteme im Innenbereich ein dicht gepacktes Netzwerk bilden.

Ein erstes unabhängiges Hohlfasermembransystem 20 dient dabei für den Mediumzufluß. Ein zweites unabhängiges Hohlfasermembran ist für die Versorgung der Mikroorganismen, z. B. mit Sauerstoff bzw. die Entsorgung mit CO<sub>2</sub>, vorgesehen. Der Mediumabfluß wird durch ein drittes unabhängiges Membransystem sichergestellt.

Jedes einzelne unabhängige Hohlfasermembransystem besteht dabei aus einer Vielzahl einzelner Hohlfasern, wobei jeweils die Hohlfasern eines Systems mit mindestens einem Einlaß bzw. Einlaß und einem Auslaß kommunizieren. Damit wird sichergestellt, daß die Hohlfasern eines jeweiligen unabhängigen Systems gleichzeitig durch den Einlaß z. B. mit Medium versorgt werden können.

Die unabhängigen Hohlfasermembransysteme bilden nun im Innenbereich des Moduls ein räumlich dicht gepacktes Netzwerk und zwar in der Weise, daß nahezu an jeder Stelle des Netzwerkes wenige Mikroorganismen nahezu identische Bedingungen für die Substratversorgung haben. Dadurch sind die Verhältnisse in physiologischen Organen mit eigenen Arterien und Venen, wie z. B. der Leber, mit der Anordnung von Hepatozyten in Lobuli weitgehend simuliert. Durch die unabhängige Anordnung der verschiedenen Membransysteme bietet das Modul den Vorteil eines dezentralen Transportes von z. B. Nährstoffen, Syntheseprodukten und Gasen zu- und von einer Vielzahl von Mikroorganismen unabhängig von ihrer Position im Modul, wie es in der Zellumgebung in natürlichen Organen der Fall ist.

Der Mediumausfluß wird dabei erfahrungsgemäß durch das dritte unabhängige Membransystem gewährleistet. Dieses Membransystem kann nun ebenfalls eine Hohlfasermembrane oder aber auch ein auswechselbare Flachmembran oder eine auswechselbare Kapillarmembran sein. Entscheidend dabei ist, daß auch das dritte Membransystem unabhängig von den beiden anderen Hohlfasermembransystemen ist.

In einer bevorzugten Ausführungsform wird vorgeschlagen, daß das dicht gepackte Netzwerk im Innenbereich durch drei unabhängige Hohlfasermembransysteme gebildet wird. In diesem Fall sind alle unabhängigen Membransysteme Hohlfasermembrane, die im Innenbereich angeordnet sind. Hierbei dient dann ein erstes unabhängiges Hohlfasermembransystem für den Mediumeinfluß, ein zweites für den Mediumausfluß und ein drittes zur zusätzlichen Versorgung z. B. mit Sauerstoff. Das dicht gepackte Netzwerk besteht dann aus diesen drei unabhängigen Systemen. Das dicht gepackte Netzwerk kann dabei verschieden aufgebaut sein, solange

nur gewährleistet ist, daß jeweils wenige Mikroorganismen im Innenbereich, eine identische Substratversorgung haben. Das räumliche dicht gepackte Netzwerk kann z. B. aus dicht gepackten Schichten bestehen, wobei sich jeweils Schichten von unabhängigen System abwechseln. Eine erste Schicht, die aus einzelnen Hohlfasermembranen besteht, ist dabei horizontal angeordnet. Die zweite Schicht, die jeweils wieder aus einzelnen Hohlfasermembranen besteht, ist dabei ebenfalls in der gleichen Ebene aber gegenüber der ersten Schicht verdreht z. B. in einem Winkel von 90° angeordnet. Diese Schichten wechseln sich nun ab und bilden zusammen eine dichte Packung. Das dritte unabhängige Hohlfasermembransystem, das jeweils wiederum aus einzelnen Schichten von Hohlfasermembranen besteht, durchzieht nun diese beiden Schichten z. B. vertikal von oben nach unten und "verwebt" somit die beiden ersten unabhängigen Schichten miteinander.

Eine weitere erfindungsgemäße Ausführung sieht vor, drei unabhängige Hohlfasermembransysteme in sich abwechselnden Schichten so übereinander zu legen, daß sie alle in einer Ebene liegen, aber jeweils um z. B. 60° verdreht angeordnet sind.

Dieses dicht gepackte Netzwerk ist nun im Innenbereich des Moduls angeordnet. Dadurch, daß jedes unabhängige System mit mindestens einem Einlaß bzw. einem Einlaß und einem Auslaß kommuniziert, ist nun gewährleistet, daß das zuführende Medium an alle Orte im Modul gleichmäßig geführt wird, ebenso wie eine gleichförmige Sauerstoffzufuhr erreicht wird. Durch das dritte unabhängige System für den Mediumabfluß kann nun auch kontinuierlich und gleichmäßig das Medium aus dem gesamten Modul, an jeder Stelle, abgeführt werden.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird vorgeschlagen, daß zusätzlich zu den drei Hohlfasermembransystemen im Innenbereich ein weiteres unabhängiges Membransystem für den Mediumabfluß verwendet wird. Erfindungsgemäß kann dazu am Außengehäuse entweder eine auswechselbare Flachmembran oder eine auswechselbare Kapillarmembran angebracht werden. Durch diese erfindungsgemäße Ausgestaltung ist sichergestellt, daß ein problemloser Abfluß des Mediums, auch über längere Zeit, erreicht werden kann.

Eine weitere erfindungsgemäße Ausgestaltung sieht vor, daß das dicht gepackte Netzwerk durch zwei unabhängige Hohlfasermembransysteme gebildet wird, wobei ein erstes für den Mediumzufluß und ein zweites unabhängiges Hohlfasermembransystem für die Sauerstoffversorgung dient, und daß als drittes unabhängiges Membransystem eine auswechselbare Kapillarmembrane, die am Außengehäuse befestigt ist, für den Mediumabfluß dient.

Das dicht gepackte Netzwerk im Innenbereich, das durch die zwei Hohlfasermembransysteme gebildet wird, ist dabei wieder analog den bisher schon beschriebenen aufgebaut.

Eine zusätzliche Variante sieht vor, daß der Mediumabfluß durch eine auswechselbare Flachmembran am Außengehäuse erfolgt. Bei dieser Ausgestaltung wird das Netzwerk im Innenbereich wieder durch zwei unabhängige Hohlfasermembransysteme gebildet.

Erfindungsgemäß werden als Hohlfasermembrane bevorzugt Polypropylen, Polyamid, Polysulphon oder Cellulose oder Silikon verwendet. Die Auswahl der Hohlfasermembrane richtet sich dabei nach den Mikroorganismen, die für den Stoffaustausch vorgesehen sind. Erfindungsgemäß lassen sich aber alle gängigen Hohlfas-

sermembrane, die bereits aus dem Stand der Technik für Stoffaustauschvorrichtungen bekannt sind, anwenden.

Erfindungsgemäß kann bei Verwendung von drei unabhängigen Hohlfasermembransystemen, die im Innenbereich ein dicht gepacktes Netzwerk bilden, ein Kapillarsystem aus flüssigkeitsimpermeablen Kapillaren, wie z. B. aus Edelstahl oder Glas verwendet werden. Dieses kann dann der Temperierung des Moduls mit seinem Innenraum dienen. Ebenso ermöglicht es ein gleichförmiges Abkühlen des Moduls mit seinem Innenraum und eingebrachten Mikroorganismen unter -20°C. In einer weiteren erfindungsgemäßen Ausgestaltung können aber auch alle weiteren Hohlfasersysteme zur Temperierung bzw. zum Abkühlen bis unter den Gefrierpunkt verwendet werden.

In einer weiteren bevorzugten Ausgestaltung wird vorgeschlagen, daß das Außengehäuse durch eine Ausgußmasse gebildet wird, wobei jeweils immer sichergestellt wird, daß ein Zugang von außen in das Volumen der Kapillare ermöglicht wird.

Das Modul weist in einer weiteren Ausgestaltung noch verschiedene Zugänge auf. Ein erster Zugang dient dabei dazu, um die Mikroorganismen in das Modul einzufüllen. Weitere Zugänge dienen zur Druck-, pH- und Temperaturmessung im Innenbereich des Moduls.

Die Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zum Betreiben des Moduls. Erfindungsgemäß wird dabei der Innenbereich des Moduls mit Mikroorganismen gefüllt. Im Anschluß daran werden die für die Züchtung und/oder Erhalt nötigen physiologischen Bedingungen eingestellt. In ein erstes unabhängiges Hohlfasermembransystem wird dann das Medium zugeführt. Das Medium tritt durch die Hohlfasermembran hindurch und verstoffwechselt sich mit den Mikroorganismen, die sich entweder in den Hohlräumen befinden oder an den Membranen adhäriert sind. Der Stoffaustausch zwischen den Mikroorganismen und dem Medium erfolgt dabei durch Konvektion. Um dies zu gewährleisten, muß lediglich der Ausgang, an dem unabhängigen Hohlfasermembransystem, in dem das Medium zugeführt wird, verschlossen werden, so daß das Medium durch die Hohlfasermembrane hindurchtreten muß. Das erfindungsgemäß Modul kann aber auch im Diffusionsbetrieb betrieben werden, indem nämlich der Ausgang beim unabhängigen Hohlfasermembransystem für den Mediumfluß offengelassen wird und somit nur ein Diffusionsbetrieb stattfindet. Der besondere Vorzug der Erfindung ist aber darin zu sehen, daß durch den Konvektionsbetrieb ein optimaler und steuerbarer Stoffaustausch erfolgt, wohingegen beim Stand der Technik bisher lediglich ein Stoffaustausch durch Diffusion stattfindet.

Die Erfindung bietet weiterhin den Vorteil, daß die Hohlfasermembranen bzw. Kapillaren mit einem für die Zellen bzw. Mikroorganismen geeigneten Substrat zur Vermittlung der Adhäsion der Mikroorganismus an die Kapillarsysteme beschichtet werden können. Das Substrat, das die Adhäsion vermittelt, enthält Bestandteile der sog. Biomatrix von Zellen, welche sich in den Zellzwischenräumen von Organen befinden.

Ein weiterer Vorzug der Erfindung ist, daß zusätzlich zum verwendeten Zelltyp ein oder mehrere weitere Zelltypen in Kokulturtechnik in den Innenraum eingebracht werden können. Diese zusätzlichen Zelltypen können dabei in dem Hohlraum eines oder mehrerer unabhängiger Kapillarsysteme kultiviert werden. Zellen für die Kokultivierung sind z. B. Nichtparenchymzellen aus den Lebersinusoiden.

Das erfindungsgemäße Modul bietet weiterhin den Vorteil, daß eines der unabhängigen Membransysteme zum Abtransport z. B. von Bestandteilen der Lebergalle dienen kann.

Durch die vorgeschlagenen unabhängigen Membransysteme ist somit eine große Breite und Anwendungsmöglichkeiten des Moduls gegeben.

Erfindungsgemäß wird n in weiteren bevorzugten Ausführungsformen noch Abwandlungen vorgeschlagen. So kann zur Unterstützung des Mediumabflusses noch zusätzlich zu den unabhängigen Hohlfasermembransystemen auswechselbare Kapillarmembrane bzw. auswechselbare Flachmembrane vorgesehen sein. Eine bevorzugte Ausführungsform weist wiederum drei unabhängige Hohlfasermembransysteme auf, die im Innenbereich ein dicht gepacktes Netzwerk bilden.

Eine besonders bevorzugte Ausführungsform sieht vor, daß die Mikroorganismen Zellen und hier insbesondere Leberzellen sind. Besonders für Leberzellen ist das erfundungsgemäße Modul und das Verfahren anwendbar. Durch den Einsatz eines erfundungsgemäßen Moduls in einem extrakorporalen Leberunterstützungssystems konnte die Leistungsfähigkeit von Leberzellen gegenüber dem Stand der Technik um 40% gesteigert werden.

Weitere Merkmale, Einzelheiten und Vorzüge der Erfindung ergeben sich aus den Figurenbeschreibungen 1 bis 10. Hierbei zeigen:

Fig. 1 Querschnitt durch ein Modul mit rechteckiger Bauform,

Fig. 2 jeweils einzelne Hohlfasermembrane, entsprechend Fig. 1, von drei unabhängigen Membransystemen,

Fig. 3 unabhängige Hohlfasermembransysteme entsprechend Fig. 1 mit Zellkulturen,

Fig. 4 jeweils einzelne Kapillare von vier unabhängigen Systemen,

Fig. 5 dreidimensionale Darstellung einer Ebene eines Moduls mit vier unabhängigen Hohlfasermembransystemen, entsprechend Fig. 4,

Fig. 6 drei Möglichkeiten des Mediumausflusses aus dem Modul,

Fig. 7 alternative Anordnungen der Membranköpfe auf einer Seite des Moduls,

Fig. 8 Querschnitt eines Moduls mit Hohlfasermembranen und Membranköpfen mit verschiedenen ausgestalteten Hohlfasermembranen,

Fig. 9 verschiedene Zugänge zum Modul und

Fig. 10 exemplarische Verwendung eines Moduls als extrakorporales Unterstützungssystem.

Fig. 1 zeigt einen vertikalen Querschnitt durch eine mögliche Ausgestaltung eines Moduls. Dieses Modul 1 weist ein dicht gepacktes Netzwerk 5 aus drei unabhängigen Systemen auf.

Das Modul 1 besteht aus einem Außengehäuse 2 und einem Innenbereich 4, in dem sich das dicht gepackte Netzwerk 5 befindet. Das Außengehäuse 2 besteht aus einer Dichtmasse, in die die Kapillare vergossen sind. Das Außengehäuse 2 weist dabei einen Zugang von außen in das Lumen der Kapillaren auf. Die Dichtmasse erhält die mechanische Stabilität des Moduls.

Das dicht gepackte Netzwerk 5, im Innenbereich 4 des Moduls 1, ist dabei im Beispielsfall wie folgt aufgebaut:

Ein erstes unabhängiges Hohlfasermembransystem wird durch Schichten von Hohlfasern 3 gebildet, wobei diese ersten Schichten horizontal angeordnet sind. Jede einzelne Schicht besteht dabei aus linearen Hohlfaser-

membranen 3, die dicht nebeneinander angeordnet sind. Das zweite unabhängige Hohlfasermembransystem wird dabei ebenfalls durch Schichten gebildet, die in diesem Fall in einen Winkel von 90° in derselben Ebene 5 angeordnet sind, wobei sich die Schichten der beiden unabhängigen Systeme abwechseln. Diese Schichten sind in Fig. 1 zum Teil durch Kreise dargestellt. In einem Modul 1 sind nun diese abwechselnden Schichten dicht übereinander gepackt angeordnet. In einem Versuchsmodul mit den Außenabmessungen 12 x 12 cm sind dabei ca. 100 Schichten übereinander angeordnet. Das dritte unabhängige Hohlfasermembran-System ist nun im Beispielsfall nach Fig. 1 durch die vertikalen Linien 10 dargestellt. Diese Linien stellen Hohlfasermembrane dar, die nun die in einer Ebene liegenden Schichten 15 vertikal von oben nach unten durchziehen. In dem beschriebenen Versuchsmodul sind dabei ca. 50 Schichten vorgesehen, die das Modul vertikal von oben nach unten verweben. Durch diese Ausgestaltung des dicht gepackten Netzerkes ist es nun gewährleistet, daß wenige Zellen, wie in Fig. 2a und 2b ersichtlich, jeweils eine identische Substratversorgung haben.

Zum Betrieb des Moduls wird nun z. B. Medium durch den Mediumeinstromkopf 6 in das Lumen der Kapillaren 25 zugeführt. Der dem Mediumeinstromkopf 6 gegenüberliegende ist geschlossen. Dieses Medium tritt nun durch die Membrane der Kapillare hindurch und es tritt ein Stoffaustausch mit den Zellen 9, die entweder in den Hohlräumen angeordnet sind und/oder an den Kapillaren 30 adhäriert sind, ein. Die Zellen 9 werden dann während des Stoffaustausches mit Sauerstoff versorgt. Der Sauerstoff tritt dabei durch den Sauerstoffeinstromkopf 13 in das Lumen der Kapillare ein und wird über den Sauerstoffaustromkopf 14 abgeführt. Im Beispielsfall 35 sind die Hohlfasermembrane 3 des unabhängigen Systems, für die Sauerstoffversorgung, durch U-förmige Hohlfasermembrane gebildet. Der Stoffabtransport erfolgt dann über das dritte unabhängige Hohlfasermembransystem durch die mit Kreisen gekennzeichneten 40 Hohlfasermembranen. Diese Hohlfasermembrane münden dann in einen Mediumausstromkopf 15, von wo aus das Medium abgeführt werden kann (nicht abgebildet).

Durch den Zugang 7 können in dem Innenbereich des Moduls 1 Zellen 9 zugeführt werden. Ein weiterer Zugang 8 ist vorgesehen, um Messungen im Innenbereich des Moduls wie z. B. Druck, Temperatur oder pH vornehmen zu können.

Die gezeigte mögliche Ausgestaltung des Moduls kann beliebig variiert werden. Die Grundform des Moduls kann nicht nur rechteckig sein, sondern sie kann 50 genauso ein N-Eck sein oder ein sonstiger beliebiger Hohlkörper, sofern der Hohlkörper es ermöglicht, daß in einem Innenbereich 4 ein dicht gepacktes Netzwerk 5 von unabhängigen Hohlfasermembransystemen untergebracht werden kann. Erfindungswesentlich ist dabei immer die Ausgestaltung des dicht gepackten Netzwerkes 5 des Hohlfasermembransystems. Abweichend von der in Fig. 1 dargestellten Möglichkeit ist es genauso möglich, einzelne Schichten dicht gepackt übereinander anzurordnen, wobei jede einzelne Schicht aus abwechselnden unabhängigen Hohlfasermembranen gebildet ist. Eine weitere Möglichkeit besteht darin, die beiden ersten Schichten nicht im Winkel von 90°, sondern in ein 55 n Winkel  $\alpha$  von 0 bis 180° anzurordnen. Auch für das dritte unabhängige Hohlfasermembransystem bestehen 60 beliebige Möglichkeiten, solange nur gewährleistet ist, daß eine nahezu identische Substratversorgung sowohl für Mediumzufluß, Sauerstoffversorgung und Medium-

abfluß gewährleistet ist.

Fig. 2 zeigt jeweils einzelne Hohlfasern 3 von drei unabhängigen Hohlfasermembransystemen. Fig. 3a und b zeigen dabei eine beliebig herausgegriffene Stelle aus dem Innenbereich 4 des Moduls 1. Aus Fig. 2a und b ist der wesentliche Erfindungsgedanke erkennbar. Durch die Hohlfasermembran 3, die ein einzelnes Membran aus einem ersten unabhängigen Membransystem darstellt, wird Medium zugeführt (durch Pfeile angedeutet). Dieses Medium tritt durch die Membran 3 hindurch. Die Mikroorganismen 9, hier Zellen, befinden sich dabei in den Hohlräumen des dicht gepackten Netzwerkes 5 und/oder sind, wie in Fig. 3 gezeigt, an den Kapillaren adhäriert. Zwischen den Zellen 9 und dem Medium findet dann ein Stoffaustausch statt. Erfindungsgemäß wird dabei durch ein weiteres unabhängiges Hohlfasermembransystem, hier in Fig. 2a und 2b herausgegriffen eine einzelne Hohlfasermembran 3, die Zellen z. B. mit Sauerstoff versorgt (horizontale Membrane). Ein drittes unabhängiges Hohlfasermembransystem, hier wiederum nur durch eine einzelne Hohlfasermembran 3 dargestellt, dient zum Mediumausstrom. Nach dem Stoffaustausch des Mediums mit den Zellen wird demgemäß das Medium abgeführt.

Die in den Fig. 2a und 2b abgebildeten einzelnen Hohlfasermembranen sind Bestandteile des dicht gepackten Netzwerkes 5 im Inneren des Moduls 1. Das dicht gepackte Netzwerk 5 ist dabei so aufgebaut (Fig. 1, 10), daß an jeder Stelle, innerhalb des Moduls 1, gleiche Bedingungen der Substratversorgung vorherrschen. An jeder Stelle des Moduls 1 werden die Zellen 9 demnach gleichmäßig versorgt und damit wird ein optimaler Stoffaustausch und eine Steuerbarkeit des Stoffaustausches gewährleistet. Aus Fig. 2b ist die Perfusion der Zellen 9 und der Mediumstrom entlang der Kapillare ersichtlich. Durch diese erfindungsgemäße Ausgestaltung kommt man nun den wahren Verhältnissen z. B. in der Leber sehr nahe.

Fig. 3 zeigt verschiedene Zellkulturmethoden innerhalb des Moduls. Erfindungsgemäß können die Mikroorganismen 9 auf verschiedene Weise im Modul 1 angeordnet sind. Fig. 3a zeigt eine Adhäsionskultur an Membranen, Fig. 3b eine Aggregatkultur zwischen den Membranen, Fig. 3c Mikrokariertkulturen zwischen den Membranen, Fig. 3d Kapselkulturen zwischen den Membranen und Fig. 3e Kokulturen in separaten Membrankompartimenten. Durch den erfindungsgemäßen Aufbau des Moduls 1, d. h. durch das dicht gepackte Netzwerk im Innenbereich des Moduls bestehend aus einzelnen Hohlfasermembranen, lassen sich somit verschiedene Zellkulturmethoden anwenden und damit eine große Anwendungsbreite für die Erfindung realisieren.

Fig. 4 zeigt nun jeweils einzelne Kapillare von vier unabhängigen Systemen und wie die Kapillaren beschichtet sind mit Adhäsionsfaktoren. Drei Systeme liegen dabei in einer Ebene. Fig. 4 zeigt herausgegriffen vier unabhängige Membransysteme, die jeweils Bestandteil eines gesamten Systems sind. Ein Hohlfasermembransystem 3 dient dabei, wie bereits in Fig. 1 und 2 beschrieben, zum Mediumeinfluß, ein System 3 zum Mediumausfluß, ein drittes System zur Oxygenierung und ein weiteres unabhängiges System 10 z. B. zur Dialyse, als Wärmeaustauscher für Tiefgefrierung von Zellen oder für Kokulturen mit weiteren Zelltypen. Die schwarzen Stellen an den Membranen 3 zeigen die Porenöffnungen (Zellen nicht abgebildet). Durch die Bereitstellung von vier verschiedenen unabhängigen Hohl-

fasersystemen läßt sich somit der Anwendungsbereich des Erfindungsgegenstandes nochmals deutlich erweitern. Neben dem wesentlichen Vorteil der Erfindung, daß eine gleiche Substratversorgung für nahezu jede Zelle innerhalb des Moduls vorliegt, ermöglicht es die Erfindung auch, durch die Beschichtung der Kapillaren mit Adhäsionsfaktoren innerhalb des Moduls eine möglichst große Menge an Zellen unterzubringen, die nahezu alle eine gleiche Substratversorgung erfahren, und deshalb eine erhöhte Lebensdauer aufweisen.

Fig. 5 zeigt nun in einer Draufsicht, in dreidimensionaler Ausgestaltung, eine Ebene eines Moduls mit vier unabhängigen Hohlfasermembransystemen, analog Fig. 4. Ein erstes unabhängiges System dient hierzu wiederum zum Mediumeinstrom, ein zweites zum Mediumausstrom und ein drittes zur Sauerstoffversorgung. Ein vierter unabhängiges Hohlfasersystem kann zur Dialyse oder als Wärmeaustauscher für Tiefgefrierung der Zellen oder auch als Substratzufuhr für Kokulturen dienen.

Fig. 6 zeigt verschiedene Möglichkeiten des Mediumausflusses aus dem Modul 1. In den bisher in den Fig. 1 bis 5 beschriebenen Ausgestaltungen der Erfindung erfolgte der Mediumausfluß jeweils über Hohlfasermembrane 3. Eine erfindungsgemäße Ausgestaltung sieht vor, daß der Mediumausfluß nicht nur durch Hohlfasermembrane, die Bestandteil eines unabhängigen Hohlfasermembransystems innerhalb des dicht gepackten Netzwerkes 5 sind, erfolgt, sondern daß der Mediumausfluß noch durch verschiedene Varianten erfolgen kann. Fig. 6 zeigt dabei in einem Bild die verschiedenen Möglichkeiten. Entweder erfolgt der Ausfluß über fest eingefügte Kapillarmembrane, räumlich in vorgegebener Anordnung zu den übrigen Kapillarmembranen, oder über auswechselbare Kapillarmembrane 12, ebenfalls räumlich unabhängig zu den übrigen Membransystemen. Die auswechselbare Kapillarmembran 12 ist dabei am Außengehäuse 2 befestigt. Das Außengehäuse 2 muß dabei eine Öffnung aufweisen, die dazu geeignet ist, die auswechselbare Kapillarmembran 12 aufzunehmen.

Eine weitere Variante besteht darin, am Außengehäuse 2 ebenfalls auswechselbare Flachmembrane 11 anzurichten. Hierzu muß das Außengehäuse 2 wiederum entsprechende Öffnungen aufweisen.

Entscheidend ist hierbei, daß die jeweiligen speziellen Mediumausflußvorrichtungen unabhängig zu den Hohlfasermembransystem sind. Diese verschiedenen Mediumausflußvorrichtungen können auch zusätzlich zu einem bereits vorhandenen Mediumausfluß über eine Hohlfaserkapillarmembran, die Bestandteil des dicht gepackten Netzwerkes ist, erfolgen.

Fig. 7 zeigt eine spezielle Anordnung von Membranköpfen 6, 13, 14, 15 auf einer einzigen Seite des Moduls 1. Diese Ausgestaltung der Erfindung, d. h. die Anordnung aller Zu- und Abflüsse an den Außenflächen des Moduls 1 auf einer einzigen Seite, hat den Vorteil, daß hierbei alle Anschlüsse zu einer Ebene geführt werden können.

Fig. 8 zeigt eine Querschnittszeichnung eines achteckigen Moduls mit Kapillarmembranen und Membranköpfen 6, 13, 14, 15. Fig. 8 zeigt wiederum die verschiedenen Möglichkeiten auf, wie die Kapillare in einer Ebene geführt werden können. So ist es möglich, die Kapillare einfach doppelläufig zu führen mit einem Kopf für Mediumein- und -ausfluß. Eine weitere Variante ist eine Kapillare einfach gerade mit einem entsprechenden Kopf für den Mediumeinfluß. Eine dritte Möglichkeit besteht darin, eine Kapillare einfach gerade mit totalem Ende zu verwenden und einen Kopf für Mediumein- und

-ausfluß. Eine vierte Möglichkeit besteht in einer doppeläufigen Kapillare mit Zirkulation und einen Kopf für Mediumein- und -ausfluß.

Fig. 9 zeigt verschiedene Zugänge zum Innenbereich 4 des Moduls. Das Modul kann demnach verschiedene Zugänge 7, 8 aufweisen, um Messungen für Druck und Temperatur sowie Fluß, pH oder Osmolarität vorzunehmen.

Fig. 10 zeigt nun die Verwendung eines Moduls 1 als extrakorporales Leberunterstützungssystem. Das Medium, hier das Blutplasma, wird dabei über eine Blutpumpe 16 in dem Mediumeinstromkopf 6 des Moduls zugeführt. Die Sauerstoffversorgung erfolgt über den Einstromkopf 13. Über den Ausstromkopf 14 wird der Sauerstoff wieder abgeführt (nicht abgebildet). Die Mediumabfuhr erfolgt über den Mediumausstromkopf 15 und entsprechende Kontroll- und Pumpeinheiten 17.

Alle Zellen im System haben durch die erfindungsgemäße Ausgestaltung gleiche Bedingungen der Substratversorgung. Das zuführende Medium wird an alle Orte im Modul gleichförmig geführt, ebenso die Sauerstoffzufuhr. Durch Verwendung verschiedener ausführender Kapillare ist eine selektive Entnahme z. B. lipophiler Substrate möglich.

Durch diese erfindungsgemäße Ausgestaltung konnte die Lebensdauer (z. B. von Leberzellen) von 3 Tagen auf 15 Tage gesteigert werden und die Aktivität um 40% erhöht werden.

#### Patentansprüche

30

1. Modul (1) zur Züchtung und zur Nutzung der Stoffwechselleistung zum Erhalt von Mikroorganismen (9), insbesonders für Zellen oder Bakterien, bestehend aus einem Außengehäuse (2), mindestens drei unabhängigen Membransystemen, wobei mindestens zwei unabhängige Membransysteme als Hohlfasermembrane (3) ausgebildet und im Innenbereich (4) des Moduls (1) angeordnet sind, und daß diese Hohlfasermembrane (3) ein dicht gepacktes räumliches Netzwerk (5) bilden und Mikroorganismen (9), die sich in den Hohlräumen des Netzwerkes (5) befinden und/oder an den Hohlfasermembranen (3) adhäriert sind.

2. Modul nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das Netzwerk (5) aus sich kreuzenden und/oder überlagernden Hohlfasermembranen (3) besteht und so aufgebaut ist, daß die Mikroorganismen (9) an jeder Stelle im Innenbereich (4) des Moduls (1) nahezu gleiche Bedingungen der Substratver- und Entsorgung haben.

3. Modul nach Anspruch 1 bis 2, dadurch gekennzeichnet, daß das dicht gepackte Netzwerk (5) im Innenbereich (4) durch drei unabhängige Hohlfasermembransysteme gebildet wird.

4. Modul nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß zusätzlich am Außengehäuse (2) eine auswechselbare Flachmembrane (11) angeordnet ist.

5. Modul nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß zusätzlich am Außengehäuse (2) eine auswechselbare Kapillarmembrane (12) angeordnet ist.

6. Modul nach Anspruch 1 bis 2, dadurch gekennzeichnet, daß das dicht gepackte Netzwerk (5) durch zwei unabhängige Hohlfasermembransysteme gebildet wird und daß eine auswechselbare Kapillarmembrane (12) am Außengehäuse (2) vorgesehen ist.

10

7. Modul nach Anspruch 1 bis 2, dadurch gekennzeichnet, daß das dicht gepackte Netzwerk (5) durch zwei unabhängige Hohlfasermembransysteme gebildet wird und daß eine auswechselbare Flachmembrane (11) am Außengehäuse (2) vorgesehen ist.

8. Modul nach Anspruch 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß als Hohlfasermembrane Polypropylen, Polyamid; Polysulphon, Cellulose oder andere permeable Membrane verwendet werden.

9. Modul nach mindestens einem der vorhergehenden Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß das dicht gepackte Netzwerk (5) zusätzlich ein weiteres flüssigkeitsimpermeables unabhängiges Kapillarsystem aufweist.

10. Modul nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß als Kapillare (10) für das flüssigkeitsimpermeable Kapillarsystem Edelstahl, Glas, Silikon oder andere flüssigkeitsimpermeable Materialien verwendet werden.

11. Modul nach Anspruch 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß das Außengehäuse (2) durch eine Ausgußmasse gebildet wird, wobei ein Zugang von außen in das Lumen der Kapillare oder Hohlfasermembrane ermöglicht ist.

12. Modul nach Anspruch 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß für den Ein- und/oder Auslaß, in das Lumen der Kapillare oder Hohlfasermembrane entsprechende Ein- und/oder Auslaßköpfe (6, 13, 14, 15) vorgesehen sind, die mit den jeweiligen unabhängigen Kapillarsystemen kommunizieren.

13. Modul nach Anspruch 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß im Außengehäuse (2) des Moduls ein oder mehrere Zugänge (7) vorgesehen sind, die in den Innenbereich (4) führen, um Mikroorganismen (9) in das Modul (1) einzufüllen.

14. Modul nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Zugänge (7) sich als perforierte Röhren in das Modul hinein fortsetzen, wodurch eine gleichmäßige Verteilung der Mikroorganismen (9) in den Innenbereich (4) ermöglicht wird.

15. Modul nach Anspruch 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß ein Zugang (8) im Außengehäuse (2) angeordnet ist, der zur Druckmessung im Innenbereich (4) des Moduls (1) dient.

16. Verfahren zum Betreiben des Moduls nach den Ansprüchen 1 bis 15 zum Erhalt und zur Nutzung der Stoffwechselleistung und/oder Züchtung von Mikroorganismen, dadurch gekennzeichnet, daß der Innenbereich (4) des Moduls (1) mit Mikroorganismen (9) gefüllt und die für die Züchtung und/oder Erhalt nötigen Bedingungen eingestellt werden und daß über ein erstes unabhängiges Hohlfasermembransystem Medium zugeführt und daß die Mikroorganismen (9) über ein zweites unabhängiges Hohlfasermembransystem zusätzlich z. B. mit Sauerstoff versorgt und von CO<sub>2</sub> entsorgt werden und daß nach erfolgtem Stoffaustausch das Medium über ein drittes unabhängiges Membransystem abgeführt wird.

17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß das dritte unabhängige Membransystem für den Mediumabfluß ein Hohlfasermembransystem ist.

18. Verfahren nach Anspruch 16 und 17, dadurch gekennzeichnet, daß der Mediumausfluß zusätzlich am Außengehäuse (2) des Moduls (1) über eine auswechselbare Kapillarmembrane (12) erfolgt.

19. Verfahren nach Anspruch 16 und 17, dadurch gekennzeichnet, daß der Mediumausfluß zusätzlich am Außengehäuse (2) des Moduls (1) über eine auswechselbare Flachmembrane (11) erfolgt.

20. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß das dritte unabhängige Membransystem für den Mediumausfluß eine auswechselbare Flachmembrane (11) ist.

21. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß das dritte unabhängige Membransystem für den Mediumausfluß eine auswechselbare Kapillarmembrane (12) ist.

22. Verfahren nach Anspruch 16 bis 21, dadurch gekennzeichnet, daß die Mikroorganismen (9) sich in den Hohlräumen des Netzwerkes (5) befinden, und/oder an den Membranen (3) adhäriert sind.

23. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 16 bis 22, dadurch gekennzeichnet, daß eines oder mehrere der unabhängigen Kapillarsysteme zeitweilig für das Abkühlen des Moduls (1) mit den Mikroorganismen (9) verwendet werden, indem diese mit einem Kühlmedium durchströmt werden.

24. Verfahren nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß das Modul (1) mit den enthaltenen Mikroorganismen (9) auf Temperaturen unter  $-20^{\circ}\text{C}$  abgekühlt wird, um die Mikroorganismen (9) über längere Zeiträume zu lagern bzw. zu transportieren.

25. Verfahren nach Anspruch 23 und 24, dadurch gekennzeichnet, daß das Abkühlen des Moduls (1) mit den enthaltenen Mikroorganismen (9) nach dem Austausch des Zellernährungsmediums mit einem geeigneten Zellgefriermedium erfolgt.

26. Verfahren nach Anspruch 16 bis 25, dadurch gekennzeichnet, daß im Modul (1) ein für die Mikroorganismen (9) physiologischer Druck, Temperatur und pH eingestellt wird.

27. Verfahren nach Anspruch 16 bis 26, dadurch gekennzeichnet, daß die Mikroorganismen Zellen, insbesondere Leberzellen, sind.

28. Verwendung eines Moduls nach den Ansprüchen 1 bis 15 als Leberunterstützungssystem.

29. Verwendung des Moduls nach den Ansprüchen 1 bis 15 als Alternativmethode zur Vermeidung von Tierversuchen.

30. Verwendung des Moduls nach den Ansprüchen 1 bis 15 als System zur Produktion von Proteinen oder weiteren Blutbestandteilen.

31. Verwendung des Moduls nach den Ansprüchen 1 bis 15 als System zur Produktion monoklonaler Antikörper.

---

Hierzu 10 Seite(n) Zeichnungen

**- Leerseite -**

Fig.: 1

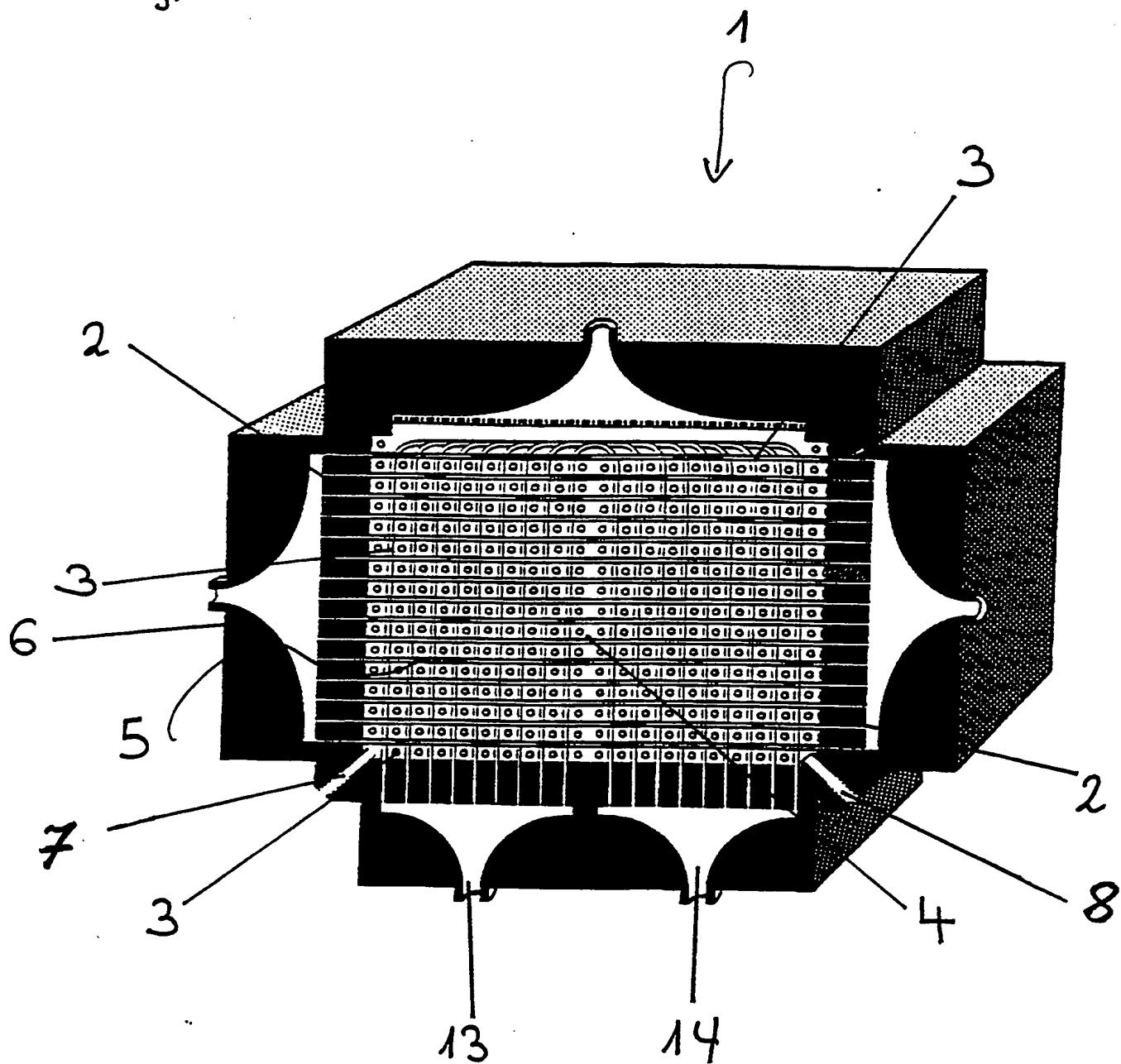
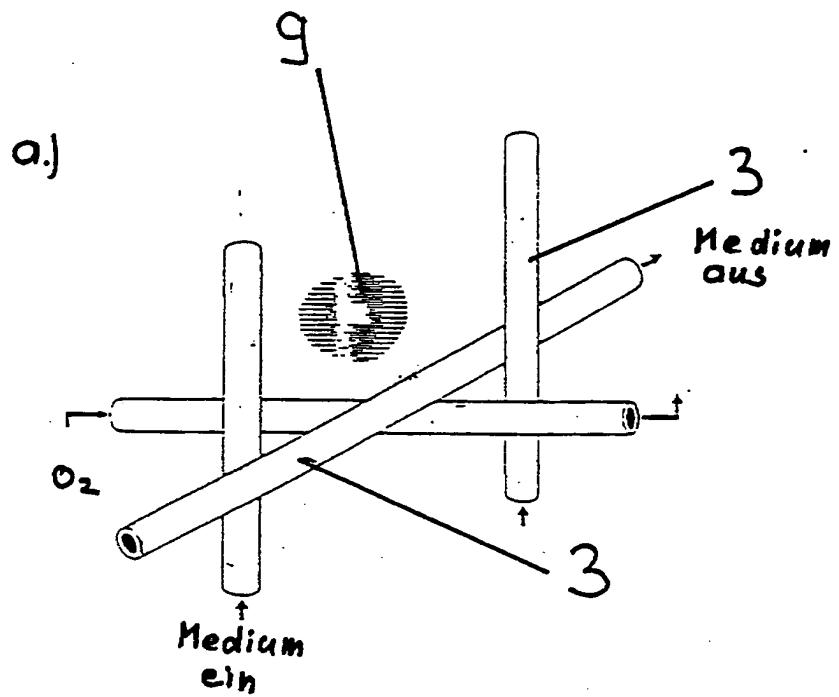


Fig.: 2



b.)

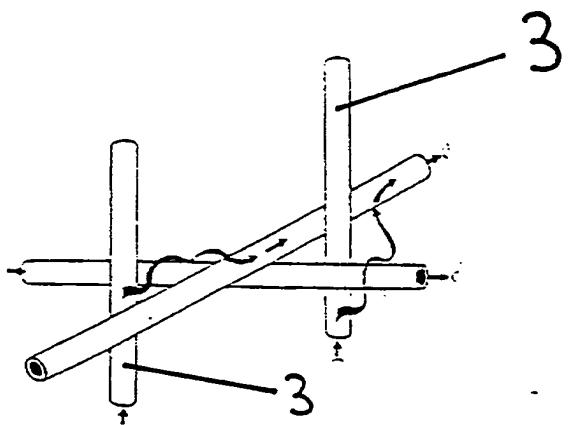
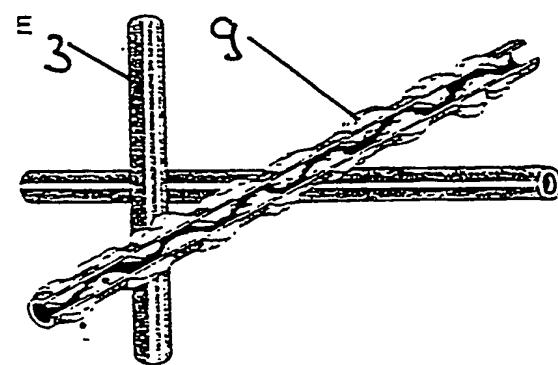
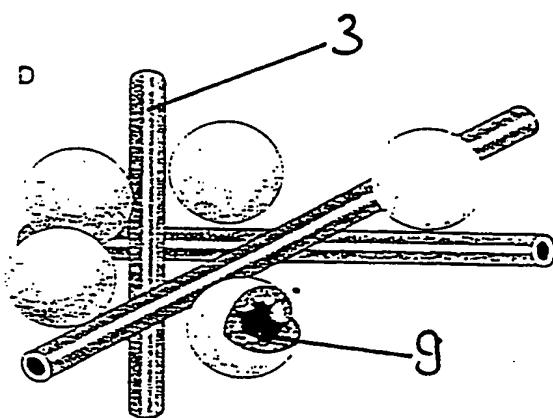
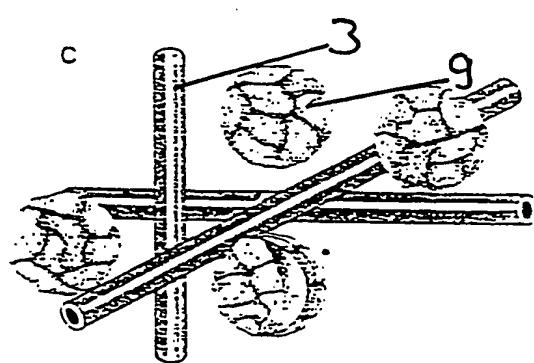
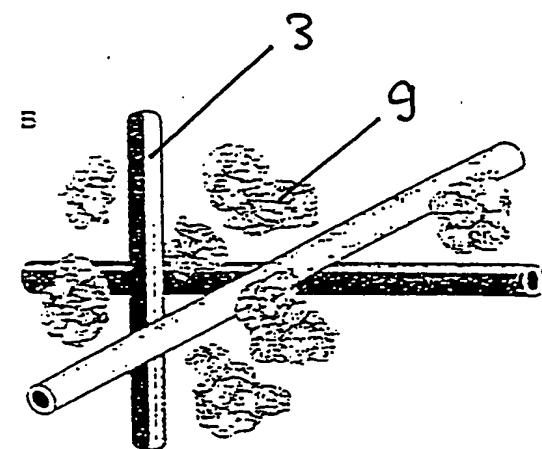
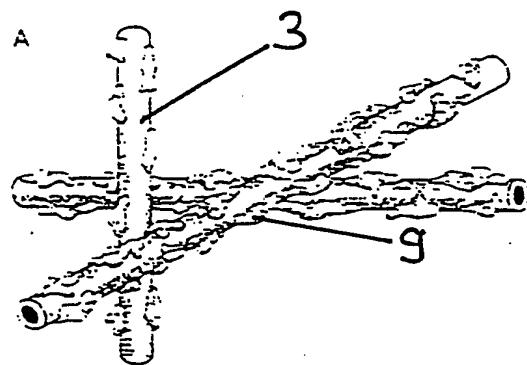


Fig.: 3



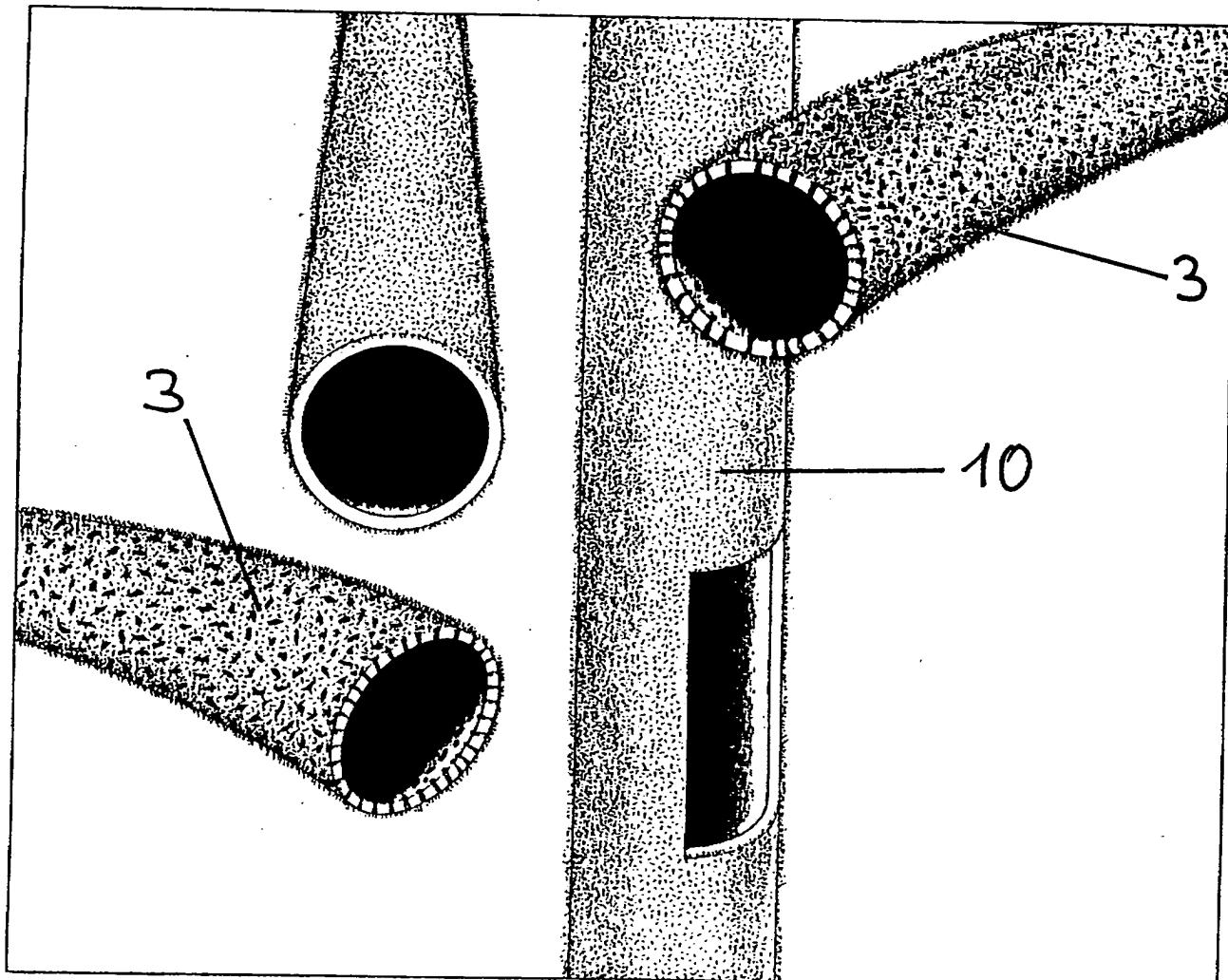


Fig.: 4

Fig.:5

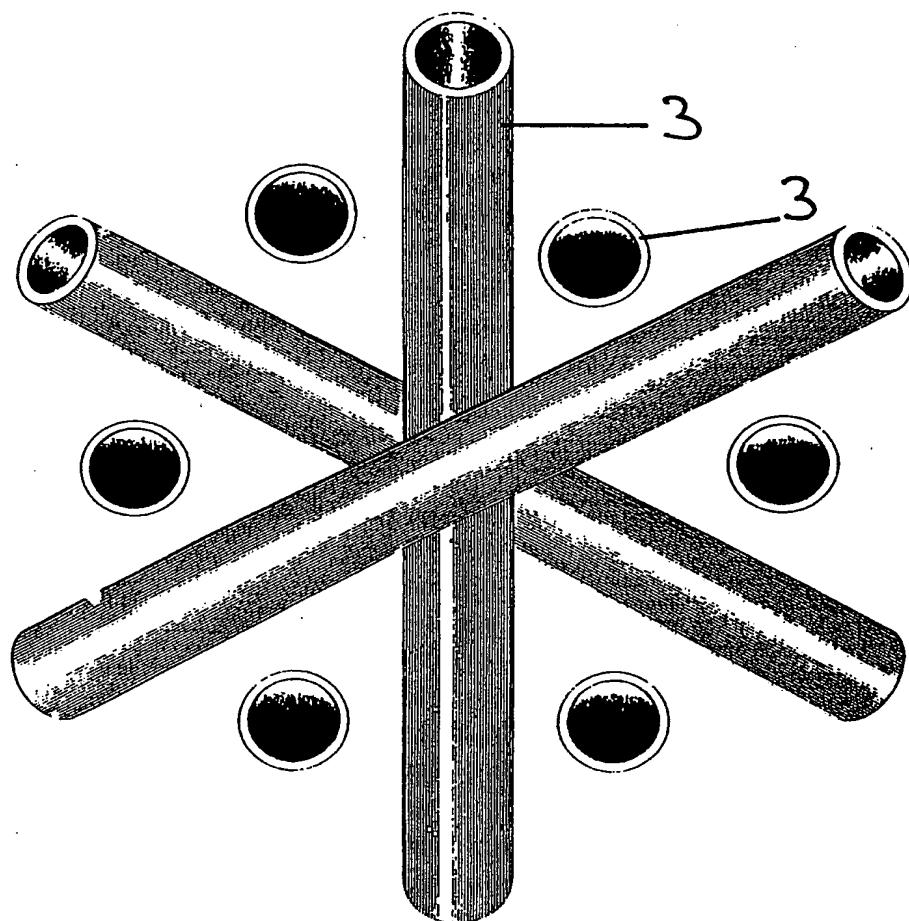


Fig.: 6

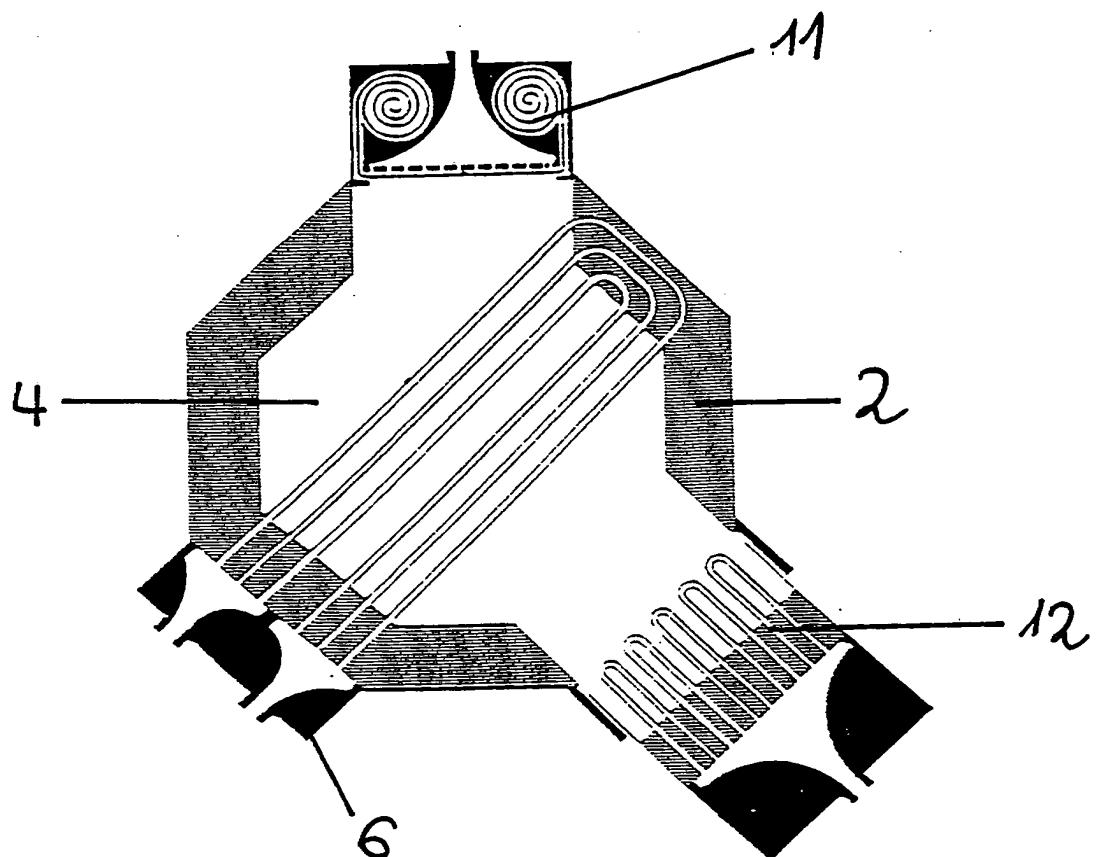


Fig.: 7

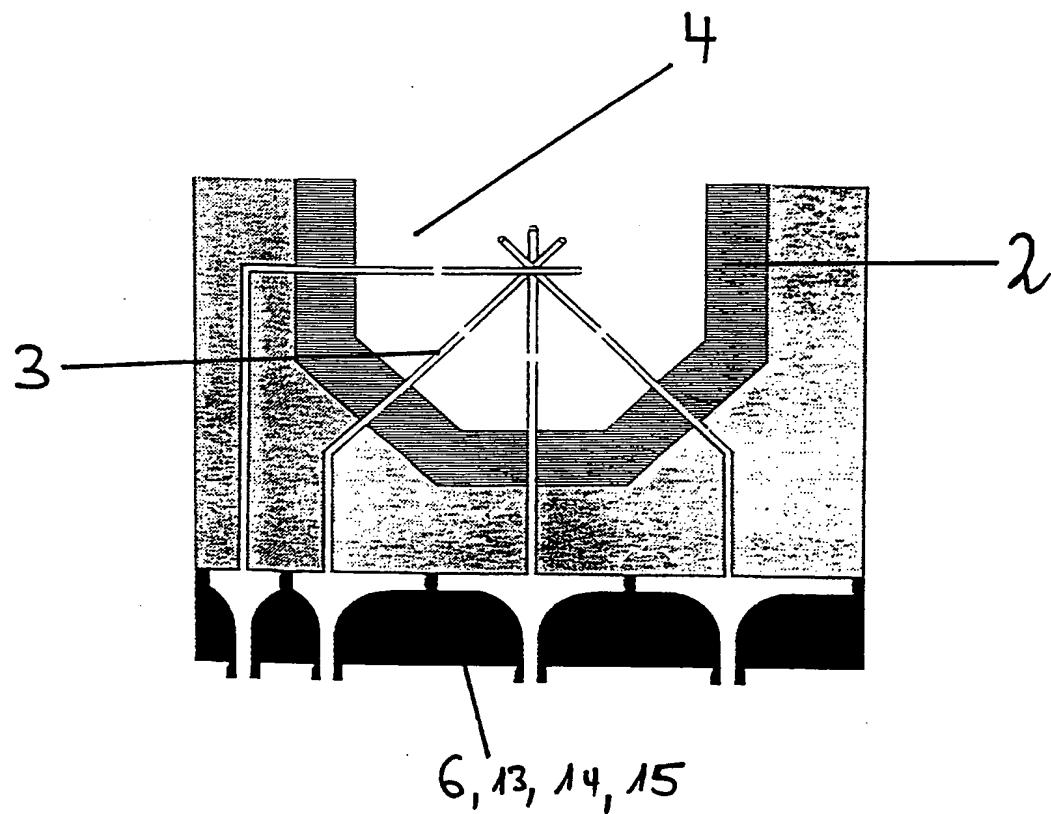


Fig.: 8

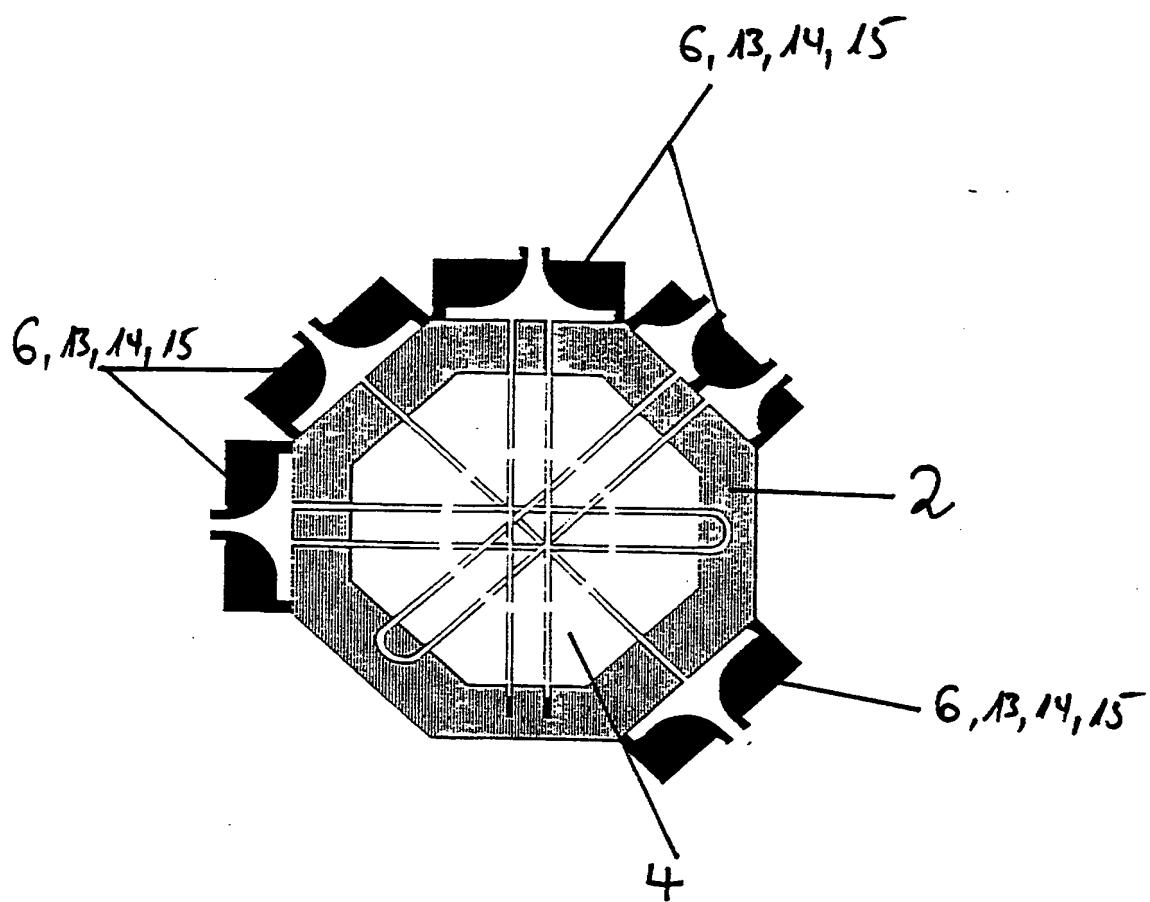


Fig.: 9

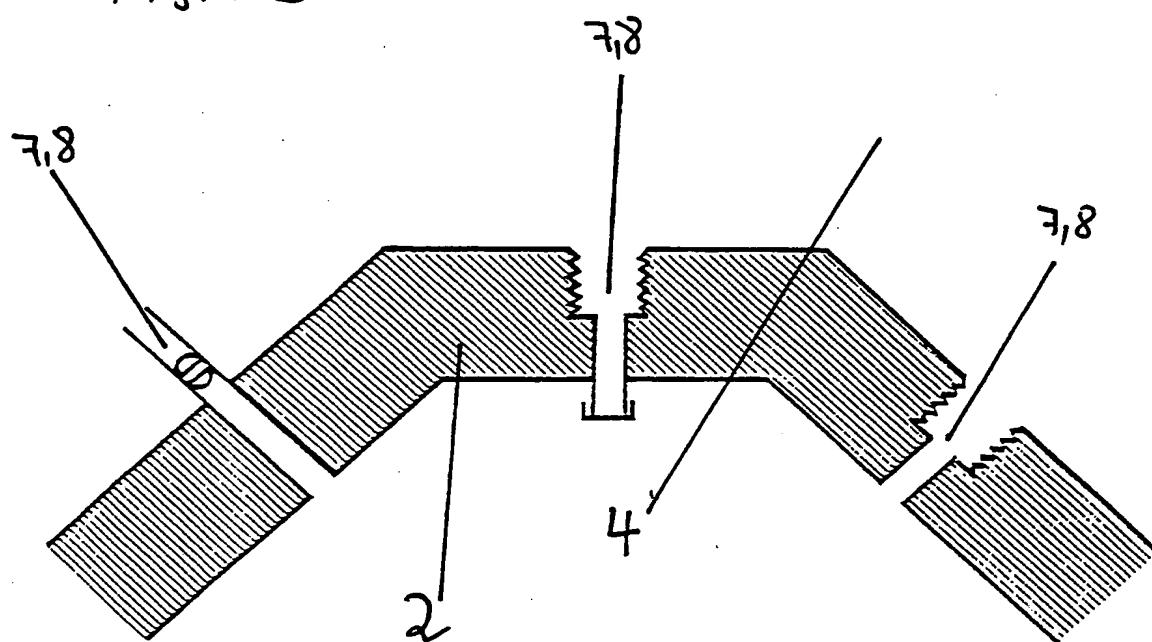


Fig.: 10

